

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE MÖGLICHKEIT DER
INFEKTION DER ZECKEN
RHIPICEPHALUS APPENDICULATUS,
RH. SANGUINEUS UND
HYALOMMA ANATOLICUM EXCAVATUM
MIT BABESIA RODHAINI UND B. GALAGOLATA

Werner Wöhrle

1976



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553810_0035

Aus dem Institut
für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie
des Fachbereichs Tiermedizin der Universität München
Vorstand: Professor Dr. Dr. h.c. J. Boch

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE MÖGLICHKEIT DER INFektion DER
ZECKEN RHIPICEPHALUS APPENDICULATUS, RH. SANGUINEUS UND
HYALOMMA ANATOLICUM EXCAVATUM MIT BABESIA RODHAINI UND
B. GALACOLATA.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
des Fachbereichs Tiermedizin der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Werner Wöhrle
aus
Nürnberg

München 1976

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Tiermedizin
der Universität München

Dekan: Professor Dr. B. Vollmerhaus
Referent: Professor Dr. Dr. h.c. J. Boch
Korreferent: Professor Dr. H. Mahnel

Tag der Promotion : 30. Juli 1976



Inhaltsverzeichnis

	Seite
A. Einleitung	1
B. Biologie, Virulenz und Pathogenität von <i>Babesia rodhaini</i> und <i>B. galagolata</i> , Vorkommen und Entwicklung von <i>Rhipicephalus appendiculatus</i> , <i>Rh. sanguineus</i> und <i>Hyalomma anatolicum excavatum</i> sowie bisher bekannte Überträgerzecken für Nagetierpiroplasmen (anhand der Literatur) ...	2
C. Eigene Untersuchungen	
I. Material und Methoden	7
II. Ergebnisse	
1. Vorversuche	11
2. Infektionsversuche	17
3. Nachweisversuche	23
D. Besprechung der Ergebnisse	31
E. Zusammenfassung und Summary	35
F. Literaturverzeichnis	37

Lebenslauf

A. Einleitung

Die ursprünglich aus der Baumratte *Thamnomys surdaster* stammende *Babesia rodhaini* sowie die aus dem Halbaffen *Galago crassicaudatus* isolierte *Babesia galagolata* lassen sich auf der weißen Maus halten. Bei *B. galagolata* bleibt nach einer patenten Phase eine latente Infektion über mehrere Monate. Dagegen führt die Infektion mit *B. rodhaini* zu einer akuten Erkrankung und nach 7 - 10 Tagen zum Tod des Wirtstieres.

Es wird vermutet, daß beide Babesienarten durch Zecken übertragen werden; entsprechende Beobachtungen fehlen jedoch ebenso wie eine Bestätigung im Experiment. In eigenen Untersuchungen sollte die Möglichkeit der Infektion von drei Zeckenarten (*Rhipicephalus appendiculatus* und *Rh. sanguineus* kommen im Verbreitungsgebiet dieser Babesien vor) mit *B. galagolata* und *B. rodhaini* untersucht werden. *Rhipicephalus appendiculatus*, *Rh. sanguineus* und *Hyalomma anatolicum excavatum* haben verschiedentlich Nager als natürliche Wirtstiere und sind als Überträger anderer Babesienarten bekannt.

- B. Biologie, Virulenz und Pathogenität von Babesia rodhaini und B. galagolata, Vorkommen und Entwicklung von Rhipicephalus appendiculatus, Rh. sanguineus und Hyalomma anatolicum excavatum sowie bisher bekannte Überträgerzecken für Nagetierbabesien (anhand der Literatur).

Für die Infektionsversuche wurden die Babesienarten *Babesia rodhaini* und *B. galagolata* verwendet.

Babesia rodhaini (BERGHE, VINCKE, CHARDOME und BULCKE, 1950) wurde 1950 im Kongo aus der afrikanischen Baumratte *Thomomys surdaster* isoliert. Der Parasit hat eine Größe von 2,7- 3,6 μ m und vermehrt sich im Erythrozyten durch Vierteilung. Ein natürlicher Vektor ist bisher nicht bekannt; die Übertragung auf empfängliche Versuchstiere erfolgte durch Verimpfung (AESCHLIMANN und SUTER, 1965).

Bei experimentell infizierten Labormäusen waren nach 12-15 Tagen 100- 260 % der Erythrozyten befallen. Von 18 Versuchstieren überstanden 17 die akute Parasitämiephase, sie behielten aber für längere Zeit einen geringen Parasitenspiegel (BERGHE und Mitarb., 1950). Durch Passagierung wurde *B. rodhaini* zunehmend virulenter; RODHAIN (1950) und BEVERIDGE (1953) beschrieben bereits Parasitämiepeaks von 840 bzw. 900 %, die nur wenige Mäuse überlebten. Innerhalb von 15 Jahren ist der Originalstamm für Mäuse so virulent geworden, daß praktisch alle Tiere an der Infektion eingingen (PAGET und Mitarb., 1962). 90 von AESCHLIMANN und SUTER (1965) mit jeweils 0,4 ccm babesieninfizierten Blutes beimpfte Mäuse verendeten alle innerhalb von 11 Tagen, die meisten am 6.- 7. Tag p.i. Dabei wurden Parasitämien bis 940 % beobachtet. NOWELL (1969) kam bei seinen Versuchen mit *B. rodhaini* ebenfalls auf Parasitämien bis 900 %, doch überlebten 14 % seiner Mäuse. Möglicherweise wurde ein weniger oft passagierter Parasitenstamm verwendet. Bei COX und YOUNG (1969) überlebte keine der von ihnen mit je $2,6 \times 10^7$ infizierten Ery-

throzyten beimpften Mäuse den 8. Tag p.i.

B. rodhaini ist zu einem reinen Laborstamm geworden, der sich seit seiner Isolierung entscheidend verändert hat (COX und YOUNG, 1969). Die Parasitämiekurve steigt bei niedriger ($0,25 \times 10^6$) Infektionsdosis genau so steil an wie bei hoher ($1,6 \times 10^7$); lediglich die Präpatenzzeit kann mit der Dosis etwas variiert werden (NOWELL, 1969). Dadurch läßt sich gezielt ein bestimmter Parasitämieverlauf erzeugen (BÜNGENER, 1967).

Babesia galagolata (DENNIG, 1973) wies DENNIG (1973) erstmals im afrikanischen Halbaffen *Galago crassicaudatus* nach. Mit einem Durchmesser von 0,8– 1,9 μm zählt der Parasit zu den kleinen Babesienarten. Die Vermehrung im Erythrozyten erfolgt durch Zweiteilung; dabei bilden die Tochterindividuen einen Winkel von fast 180° .

B. galagolata läßt sich experimentell auf verschiedene Nagetierarten übertragen. In entmilzten Labormäusen führten Inokula von 5×10^7 bis $2,5 \times 10^8$ infizierten roten Blutkörperchen nach 20– 30 Tagen zu Parasitämien um 150 ‰, in Ausnahmefällen bis 300 ‰ (FRERE, 1974). Zwischen den meist 20 Tage auseinanderliegenden Piks sank die Parasitämie bis auf 10 ‰; manchmal mißlang der Erregernachweis sogar. In nicht entmilzten Mäusen überstieg die Parasitämie nach Inokulation von 2×10^8 Babesien nie 30 ‰.

Nach 18 Passagen in entmilzten Mäusen war noch keine Virulenzänderung eingetreten (HÖSL, 1974). Auch bei *B. galagolata* ist die natürliche Übertragung noch nicht bekannt.

Für meine Untersuchungen wurden die Zeckenarten Rhipicephalus appendiculatus, Rh. sanguineus und Hyalomma anatolicum excavatum verwendet.

Rhipicephalus appendiculatus (NEUMANN, 1901) ist in Ost- und Südafrika, mit Ausnahme der Wüstengebiete, weit verbreitet. Diese 3- wirtige Zecke saugt auf Wiederkäuern Blut, die Larven und Nymphen finden sich auf Nagern (HOOGSTRAAL, 1956). Alle drei Entwicklungsstadien wurden auf dem Galago beobachtet (ELBL und ANASTOS, 1966). Die Zecke ist Hauptüberträger von Theileria parva, dem Erreger des Ostküstenfiebers, ferner von T. mutans und Babesia bigemina, den Erregern des Pseudoküstenfiebers und des Texasfiebers. In Gebieten mit nur einer Regenzeit entwickeln sich nur eine Generation pro Jahr, in Gebieten mit höherer Luftfeuchtigkeit bis zu drei Generationen (ELBL und ANASTOS, 1966).

Im Labor dauert ein Lebenszyklus bei optimalen Bedingungen (Temperatur 25°C, relative Luftfeuchtigkeit 75 %) durchschnittlich 115 Tage. Als Wirtstier für alle drei Entwicklungsstadien ist das Kaninchen geeignet (BAILEY, 1960). Bei 29°C und 85- 87 % relativer Luftfeuchtigkeit vergehen nach dem Abfallen des vollgesogenen Zeckenweibchens bis zum Beginn der Eiablage 3- 5 Tage. Die Larven schlüpfen nach 28 Tagen, saugen 3- 7 Tage Blut und häuten sich 10- 49 Tage später. Die Nymphen fallen nach ihrer 3- 7 Tage dauernden Blutmahlzeit vom Wirt ab und sind nach 12- 15 Tagen Adulte, die wiederum 4- 10 Tage Blut saugen (THEILER, 1941). Die Überlebensfähigkeit der nüchternen Zeckenstadien variiert in Abhängigkeit von der Temperatur und vor allem von der Luftfeuchtigkeit stark. So können Larven bis 9 1/2, Nymphen bis 22 und Adulte bis 30 Monate ohne Nahrungsaufnahme auskommen (LEWIS, zitiert nach ELBL und ANASTOS, 1966).

Rhipicephalus sanguineus (LATREILLE, 1806) ist zwischen dem 50. Grad nördlicher und dem 35. Grad südlicher Breite ubiquitär. Als Wirtstiere sind Hunde und andere mittelgroße Säugetiere sowie Vögel und Reptilien bekannt (HOOGSTRAAL, 1956). Larven und Nymphen finden sich häufig auf Nagern. Die Zecke überträgt *Babesia canis* auf den Hund, *B. bigemina* und *Theileria annulata* auf das Rind, *B. caballi* und *B. equi* auf das Pferd (HOOGSTRAAL, 1956), sowie *Nuttallia adleri* auf den Gerbil (ADLER und FELDMAN-MUHSAM, 1952b).

Die Saugzeit der Larven und Nymphen beträgt 3- 11, die der Adulten 8- 21 Tage, während die Häutungen 5- 12 Tage erfordern. Bei einer Temperatur von 30°C kann ein Lebenszyklus - in der Natur wie im Labor - bereits nach 63 Tagen abgeschlossen sein. Ungefütterte Larven überlebten 253, Nymphen 97 und Adulte 568 Tage (NUTTALL, 1915).

Wegen des kurzen Lebenszyklus, des problemlosen Fütterns (Larven auf Ratten, Nymphen und Adulte auf Meerschweinchen oder Kaninchen) und des Fehlens einer Diapause wird *Rh. sanguineus* häufig zu Laborstudien verwendet (SRIVASTAVA und VARMA, 1964).

Hyalomma anatolicum excavatum (KOCH, 1844) kommt von den Kanarischen Inseln im Westen über Nordafrika, Südeuropa und Kleinasien bis ins südliche Rußland und nach Nordinien vor (KAISER und HOOGSTRAAL, 1964). Wirtstiere für die Adulten sind Haus- und Wildtiere, für Larven und Nymphen auch Nager (HOOGSTRAAL, 1956). Auf kleinen Säugetieren ist die normalerweise 3- wirtige Zeckenart fakultativ 2- wirtig, da die Larven sich auf dem Wirtstier zu Nymphen häuten und auf diesem dann auch saugen (SNOW, 1969). Die Zecke ist als Überträger von *Babesia equi* (NEITZ, 1956), von *Theileria annulata* (HOOGSTRAAL, 1956) und von *Nuttallia tadzhikistanica* (KRYLOV, 1964) bekannt. Unter natürlichen Verhältnissen hängt die Dauer eines Lebenszyklus wesentlich davon ab, ob die Zecke als vollgesogene Nymphe bzw. als

ungesogene Adulte überwintert. Im einen Fall entsteht nur eine, ohne Diapause können sich bis zu drei Generationen im Jahr entwickeln. Im Labor (Temperatur 28- 32°C, relative Luftfeuchtigkeit über 75 %) dauert die Gesamtentwicklung etwa 116 Tage (HOOGSTRAAL, 1956). Bei 18°C und 95 % relativer Luftfeuchtigkeit überleben ungesogene Larven bis 232, Nymphen bis 301 und Adulte bis 682 Tage (SNOW, 1969).

Eine Übertragung nagetiersspezifischer Babesienarten ist bisher nur bei 5 Nuttallia- Arten beschrieben. Nuttallia adleri wird von Rhipicephalus sanguineus- und Rh. secundus- Nymphen auf Gerbils übertragen (ADLER und FELDMAN-MUHSAM, 1952a; FELDMAN-MUHSAM, 1958). Für Nuttallia danii (TSUR, HADANI und PIPANO, 1960) sind 3 Hyalomma- und 2 Rhipicephalus- Arten als Überträger beim Gerbil bekannt (HADANI und THEODOR, 1971). Nuttallia tadzhikistanica (KRYLOV und ZANINA, 1963) wurde von der Zeckenart Hyalomma anatolicum auf Gerbils (Meriones erythrourus) übertragen (KRYLOV, 1964). Babesia microti konnte von Ixodes trianguliceps auf Maus und Ratte weiterübertragen werden (YOUNG, zitiert nach IRVIN und BROCKLESBY, 1972). Mit der Lederzecke Ornithodoros erraticus gelang die Übertragung von Nuttallia meri (GUNDERS, 1971) auf die Sandratte Psammomys obesus (GUNDERS und HADANI, 1973).

C. Eigene Untersuchungen

I. Material und Methoden

Für die Untersuchungen standen die Zeckenarten *Rhipicephalus appendiculatus* (Stamm Kenia), *Rhipicephalus sanguineus* (Stamm Berlin) sowie *Hyalomma anatolicum excavatum* (Stamm Syrien, 1965) zur Verfügung. Die Zecken wurden seit ihrer Isolierung im Labor auf Kaninchen weitergezüchtet.

Bei den Babesienarten handelte es sich um den im Institut isolierten Originalstamm von *Babesia galagolata*, den ich in der 19. Mäusepassage übernahm, und um einen institutseigenen *Babesia rodhaini*- Stamm, der in 5- 7- täglichen Passagen auf Labormäusen gehalten wird.

Als Versuchstiere dienten etwa 1100 vorwiegend weibliche, babesienfreie NMRI- Mäuse aus eigener Institutszucht und 10 Kaninchen aus dem Tierhandel. Futter (Altromin^R, Standarddiät für Mäuse, bzw. Kaninchen) und Leitungswasser wurden ad libitum gereicht. Die Mäuse waren in Makrolon^R- Käfigen auf Weichholzgranulat, die Kaninchen einzeln in Metallgitterkäfigen auf Rosten untergebracht. Die Stalltemperatur betrug ca. 20°C bei 40- 45 % relativer Luftfeuchtigkeit (r.H.). Außer den für eine Infektion mit *Babesia rodhaini* vorgesehenen Mäusen wurden alle Mäuse etwa eine Woche vor Versuchsbeginn entmilzt.

Die Infektion der Mäuse erfolgte durch intraperitoneale Weiterverimpfung babesieninfizierten Blutes, das den Spendermäusen extracardial entnommen, mit Vetren^R ungerinnbar gemacht und zur Einstellung einer bestimmten Parasitendichte mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt worden ist.

Die Bestimmung der Höhe der Parasitämie bzw. der Nachweis einer Babesieninfektion bei den Mäusen erfolgte lichtmikroskopisch (Vergrößerung 1:1000 bis 1:1250) im Giemsa-gefärbten Ausstrichpräparat eines Blutstropfens aus der

Schwanzvene. Die Höhe der Parasitämie wurde ausgedrückt als die Anzahl befallener pro 1000 Erythrozyten. Als babesienfrei galt ein Blutaussstrich, wenn in 30 Blickfeldern zu je 250 Erythrozyten keine babesienhaltigen roten Blutkörperchen nachgewiesen werden konnten.

Haltung der Zecken. Während der Nichtsaugphasen wurden die Zecken in mit Wattestopfen verschlossenen Gläschen (28x40 mm) bei 28°C und 90- 95 % r.H. im Brutschrank aufbewahrt. Zur Verhinderung von Schimmelpilzbildung gab ich den Gläschen in 0,1 %ige Bradophen^R- Lösung getauchte Filterpapierblättchen zu. Die Fütterung der Zecken auf den Mäusen wurde in Rundgläsern (Durchmesser 15 cm, Höhe 21 cm) vorgenommen, in denen die Wirtstiere während der Saugperiode einzeln untergebracht waren. Um ein Abwandern der Zecken aus den Gläsern zu verhindern, wurden sie mit Planktongaze Monodur 100^R (Maschenweite 100 µm), die mit Gummiringen über die Öffnung gespannt wurde, verschlossen. Futter und Wasser stand jederzeit zur Verfügung, so daß sich die Mäuse ad libitum versorgen konnten.

Die Larven (800- 1000 pro Maus) wurden den Mäusen ins Haarkleid eingepinselt. Halskrägen aus Pappkarton verhinderten ein Abkratzen der Zecken. Die nach der Blutmahlzeit vollgesogen in die Einstreu abgefallenen Larven wurden einmal täglich eingesammelt.

Nymphen und Adulte wurden in Kapseln angesetzt, um sie durch den engen Kontakt mit dem Wirtstier zu möglichst schnellem Anbeißen zu bewegen; gleichzeitig waren sie während des Saugakts vor dem Abgerissenwerden geschützt. Als Kapseln dienten 20 mm lange Plastikröhrchen mit einem Innendurchmesser von 8 mm. Den Mäusen wurden jeweils zwei mit Fastbond 10^R auf die vorher abraisierte und entfettete Rückenhaut geklebt und diese mit Uhu^R und Tesaband^R 451 zusätzlich ringsum fixiert. Der Zeckenbesatz erfolgte frühestens nach 24^h, wenn der Klebstoff völlig trocken war. Einer Maus wurden bis zu 35 Nymphen, bzw. 2 Adultenpaare,

verteilt auf beide Röhrchen, angesetzt. Die Röhrchen verschloß ich nach dem Zeckenbesatz luftdurchlässig mit Planktongazestückchen, die ich mit Hilfe passender Plastikringe in die lichte Weite spannte. Durch tägliches Öffnen kontrollierte ich den Fortgang des Saugakts der Zecken. Vollgesogene Zecken kamen in den Brutschrank zurück. Wenn auf einer Maus nach 14 Tagen noch keine Zecken abgebissen hatten, wurde der Versuch abgebrochen.

Versuche zur Infektion der Zecken. Jedem der 3 Zeckenentwicklungsstadien wurde durch Ansetzen auf babesieninfizierten bzw. zu infizierenden Mäusen einmal Gelegenheit gegeben, infektiöses Blut aufzunehmen. Die Infektion der Wirtsmäuse mit Babesien erfolgte zeitlich so, daß die Parasitämie an den beiden letzten Saugtagen kurz vor dem Höhepunkt war. Die Wirtsmäuse der Larven aller drei Zeckenarten wurden am Tag nach dem Zeckenbesatz, die der Nymphen am Tag des Besatzes und diejenigen der adulten Zecken erst nach dem Anbeißen eines Zeckenpaares infiziert.

Nachweis von Babesien in den Zecken bei Beendigung der infektiösen Blutmahlzeit. Von den nach der Blutmahlzeit an babesieninfizierten Mäusen abgefallenen Larven wurden bis zur Häutung zu Nymphen täglich 5 zwischen 2 Objektträgern gequetscht, das Präparat nach Giemsa gefärbt (Verdünnung der Lösung 1:5) und auf Babesien untersucht. Gleichzeitig überprüfte ich Zeckenlarven, die auf nicht infizierten Mäusen gefüttert worden waren. Zum indirekten Nachweis von Babesien in den Zecken wurden täglich 20 vollgesogene Larven im Achatmörser zerrieben und nach Aufschwemmung in 1 ml 0,9 %iger NaCl- Lösung intraperitoneal an je 2 Mäuse verimpft. Von den Mäusen fertigte ich über 3 Wochen jeden zweiten Tag Blutaussstriche an und durchmusterte diese auf Babesien. Zwei Wochen nach Beendigung dieser Blutuntersuchung wurde Blut von den bisher negativ gebliebenen Mäusen an empfängliche Mäuse verimpft. Wenn auch diese Tiere 3 Wochen lang negativ blieben, wurde der Versuch beendet.

Von je 4 vollgesogenen Nymphen untersuchte ich über 4 Tage täglich, dann bis zur Häutung zu Adulten an jedem zweiten Tag Giemsa- gefärbte Quetschpräparate mikroskopisch nach Parasitenformen. Gleichzeitig wurden täglich 6- 8 Nymphen im Achatmörser gequetscht und wie oben an Mäuse verimpft. In Blutausstrichen wurde 21 Tage lang untersucht, ob in den verimpften Nymphen für die Mäuse infektiöse Parasiten enthalten waren. Ein Blindversuch (wie oben) beendete den Versuch. Von den männlichen sowie von mindestens 2 weiblichen adulten Zecken jeder Charge wurden zum Nachweis aufgenommener Parasiten (am 5. Tag nach dem Abfallen von den infizierten Mäusen) Hämolympheausstriche angefertigt und nach Giemsa (Verdünnung der Lösung 1:5) gefärbt. Außerdem untersuchte ich stichprobenartig von einigen Zeckenweibchen (in der Woche nach dem Abfallen) Ovarien- und Speicheldrüsenpräparate. Von den Eigelegten der übrigen Zeckenweibchen wurden am 5. und am 15. Tag (nach Beginn der Eiablage) jeweils 100 Eier entnommen. Von 20 wurden Quetschpräparate angefertigt, während die restlichen zermörsert und mit physiologischer Kochsalzlösung an Mäusepaare zur weiteren Untersuchung verimpft wurden.

Alle Zeckenstadien, die als Larve, Nymphe oder Imago auf babesieninfizierten Mäusen gefüttert worden waren, wurden bis zum Larvenstadium der nächsten Generation auf nicht infizierten Mäusen weitergezüchtet. Diese Mäuse wurden 21 Tage lang (beginnend am Tag des Anbeißen der Zecken) im 2- Tage- Rhythmus auf Babesien untersucht, um auf eine evtl. transstadiale bzw. transovariale Babesieninfektion schließen zu können. Adulte Zecken, die innerhalb von zwei Wochen die Maus nicht als Wirtstier akzeptiert hatten, wurden Kaninchen angesetzt. Um einen Verlust von vollgesogenen Zecken zu verhindern, wurden den Kaninchen Stoffmanschetten über die Ohren gestülpt, an der Basis mit Te-saband^R451- Streifen befestigt und oben mit Elastrator^R- Gummiringen verschlossen. Die Kaninchen konnten zwar we-

gen ihrer Resistenz gegenüber beiden Babesienarten nicht als Testtiere für eine transstadiale Babesienübertragung gelten; die von diesen Zeckenweibchen stammenden Larven ließen sich aber, auf die Maus verbracht, auf evtl. transovarial erworbene Babesien untersuchen.

II. Ergebnisse

1. Vorversuche zur Feststellung geeigneter Parasitendichten in den Inokula.

Die Zecken sollten bei ihrer Blutmahlzeit möglichst viele babesieninfizierte Erythrozyten aufnehmen. Deshalb wurden in Vorversuchen für beide Babesienarten Inokulationsdosen gesucht, die reproduzierbare Parasitämiekurven bei den infizierten Mäusen hervorriefen. Bei bekanntem Parasitämieverlauf und bekannter Saugdauer der Zecken konnten der Zeitpunkt der Infektion der Mäuse und der des Zeckenbisses so aufeinander abgestimmt werden, daß die Parasitämie an den beiden letzten Saugtagen der Zecken, an denen die größten Blutmengen aufgenommen werden, ein Maximum erreichte.

In der Abbildung 1 ist der Parasitämieverlauf nach Inokulation von 4 verschiedenen Dosen zwischen 3×10^6 und 4×10^7 Babesia rodhaini-infizierten Erythrozyten pro Maus auf je 4 Mäuse aufgeführt. Die Kurven zeigen, daß alle Dosen nach 7- 9 Tagen zu Parasitämien um 900 % und zum Tod der Mäuse führten. Durch die Variation der Parasitendichten konnte lediglich die Dauer der Präpatenzzeit um 1- 2 Tage beeinflusst werden, während im Parasitämieverlauf keine wesentlichen Unterschiede erkennbar waren. Für die Infektionsversuche mit Babesia rodhaini wurden Inokula um 4×10^7 infizierten Erythrozyten gewählt, weil die Parasitämiekurven bei den vier mit dieser Dosis beimpften Mäusen am gleichmäßigsten verliefen.

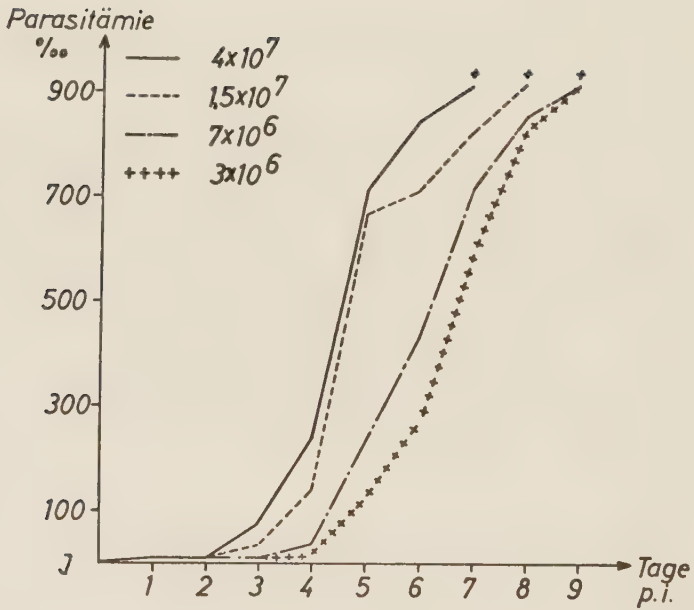


Abb. 1: Parasitämieverlauf einer *Babesia rodhaini*-Infektion bei 4 Gruppen von je 4 nicht entmilzten NMRI-Mäusen in Abhängigkeit von der Inokulationsdosis

In Abbildung 2 ist der durchschnittliche Parasitämieverlauf von 6 entmilzten Mäusen nach Inokulation von je 5×10^7 Babesia galagolata-infizierten Erythrozyten aufgeführt. Dieser Versuch war gleichzeitig die 20. Mäusepassage des Babesienstammes. Zwischen 20. und 30. Tag p.i. erreichte die Parasitämie zweimal einen Pik von 210 bzw. 220 % und ging nach 7 Tagen (Ende des Untersuchungszeitraums) bis auf 40 % zurück. Ab der dritten von mir durchgeführten (insgesamt der 22.) Mäusepassage hat sich die Virulenz des Stammes entscheidend verändert. Als Beispiel ist in den Abbildungen 3 und 4 der Parasitämieverlauf in 5 entmilzten und 5 nicht entmilzten Mäusen aufgeführt, auf die der Babesienstamm in der 31. Passage übertragen worden ist. Nach Inokulation von $2,3 \times 10^7$ befallenen Erythrozyten pro Maus erreichte die Parasitämie in beiden Gruppen nach 8 Tagen einen Höhepunkt (812 bzw. 763 %), ging dann in der ersten Gruppe innerhalb von 4, in der zweiten Gruppe innerhalb von 10 Tagen bis auf ein Viertel des Maximums zurück. In der Gruppe der entmilzten Mäuse kam es 20 Tage p.i. zu einem zweiten, kleineren Pik, ehe sich die Parasitämiekurve allmählich abflachte. Am Ende des Beobachtungszeitraums (63 Tage) betrug die durchschnittliche Parasitämie noch 110 %. Zwei Mäuse gingen 3 Tage nach Überschreitung des ersten Höhepunkts ein. Bei den nicht entmilzten Mäusen ging die Parasitämie allmählich zurück; vom 40. Tag p.i. bis zum Ende des Beobachtungszeitraums wechselten sich bei 3 der 5 Mäuse schwache apparente mit inapparenten Stadien ab, während bei den restlichen 2 Tieren bis zum 63. Tag Babesien nachgewiesen werden konnten. Die Versuche zur Infektion von Zecken mit Babesia galagolata wurden in der 22. bis 30. Passage durchgeführt. Die ausschließlich entmilzten Mäuse erhielten Infektionsdosen von 3×10^7 bis 8×10^7 befallenen Erythrozyten.

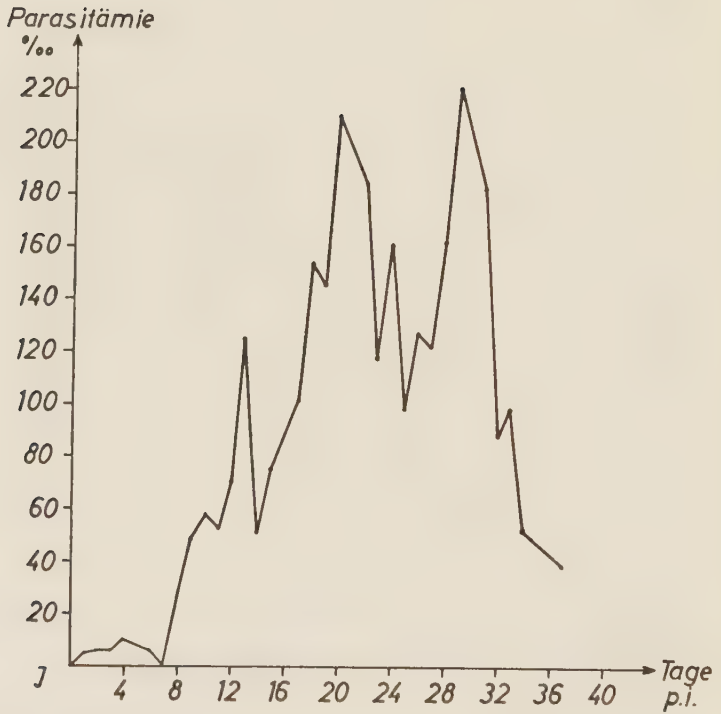


Abb. 2: Parasitämieverlauf bei 6 entmilzten NMRI-Mäusen nach Inokulation von 5×10^7 *Babesia galagolata*-infizierten Erythrozyten pro Maus (20. Mäusepassage)

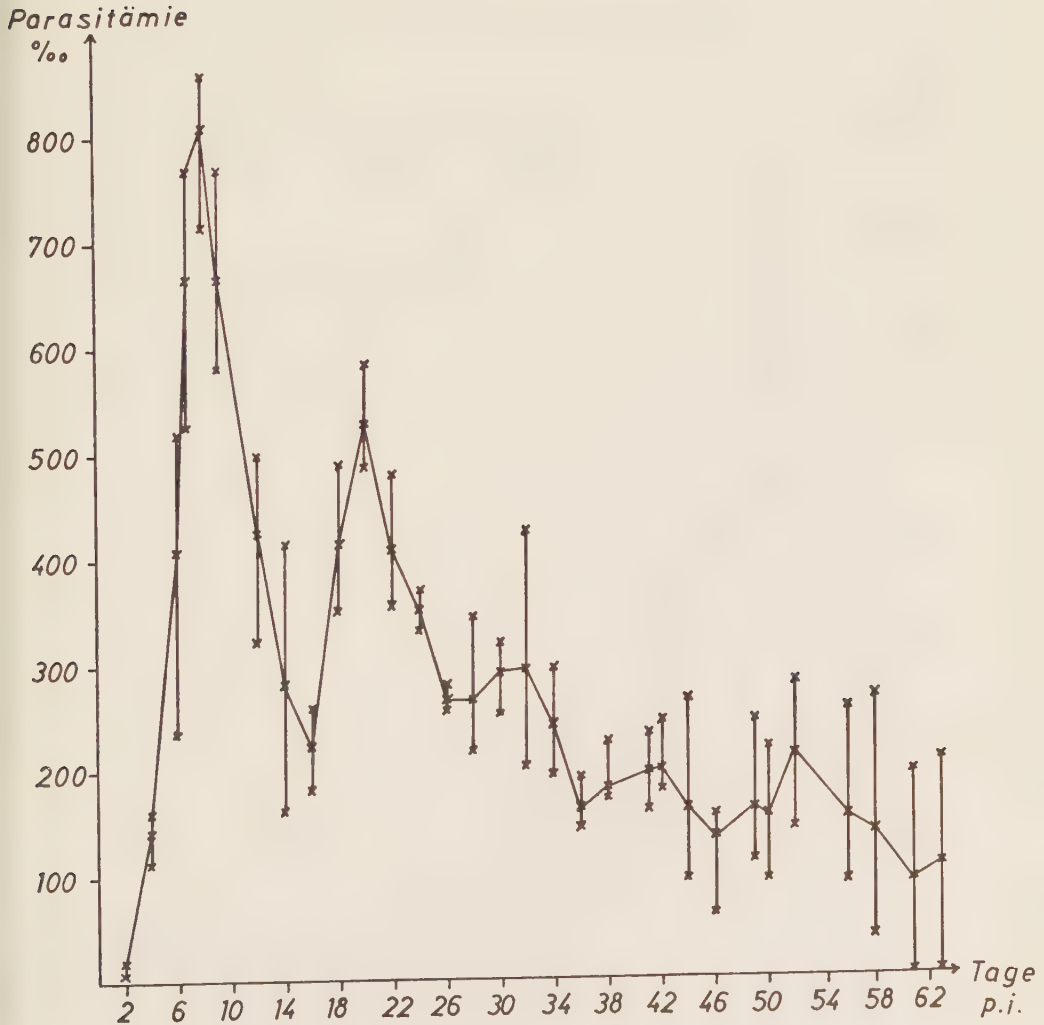


Abb. 3: Parasitämieverlauf bei 5 entmilzten NMRI- Mäusen nach Inokulation von $2,3 \times 10^7$ *Babesia galagolata*- infizierten Erythrozyten pro Maus (31. Mäusepassage)

Parasitämie

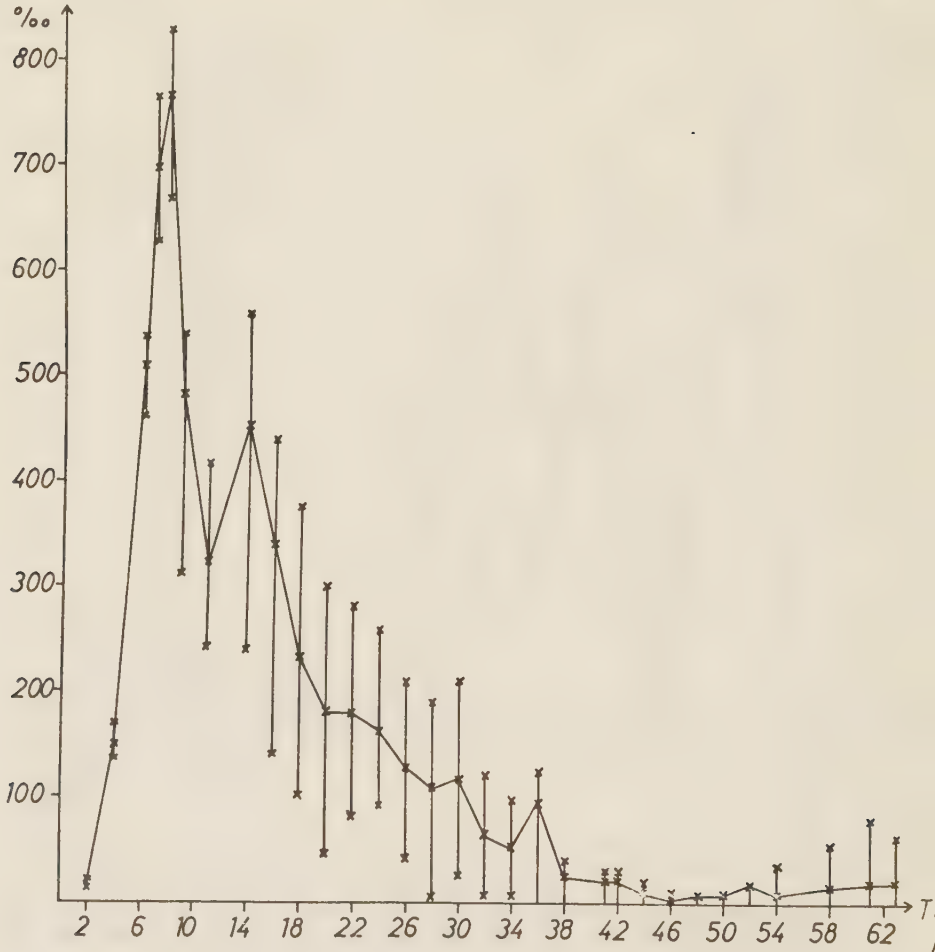


Abb. 4: Parasitämieverlauf bei 5 nicht entmilzten NMRI- Mäusen nach Inokulation von $2,3 \times 10^7$ *Babesia galagolata*-infizierten Erythrozyten pro Maus (31. Mäusepassage)

2. Versuche zur alimentären Infektion der Zecken mit Babesien.

a. *Rhipicephalus appendiculatus*

8 nicht entmilzte und 8 entmilzte Mäuse wurden mit *Babesia rodhaini* bzw. *B. galagolata* infiziert und am Tag darauf mit jeweils ca. 1000 ungesogenen Zeckenlarven besetzt. Zwischen dem 4. und 7. Tag nach dem Ansetzen fielen voll-gesogene Larven ab. Die Parasitämie der *B. rodhaini*- infizierten Mäuse betrug am Tag, an dem die ersten Zecken abfielen, durchschnittlich 440 ‰ und stieg bis zum letzten Abfalltag auf 840 ‰. Die auf den *B. galagolata*- infizierten Mäusen angesetzten Larven fielen bei Parasitämien zwischen 320 und 760 ‰ ab (Tab.1).

12 entmilzte und 12 nicht entmilzte Mäuse wurden mit je 35 ungesogenen, nicht infizierten Zeckennymphen besetzt und gleichzeitig mit *B. galagolata* bzw. *B. rodhaini* infiziert. Vollgesogene Nymphen konnten zwischen 4. und 8. Tag (Tab.2) abgesammelt werden. Die Parasitämie der *B. rodhaini*- infizierten Mäuse wurde nicht überprüft, um die Tiere durch einen zusätzlichen Blutentzug nicht zu gefährden. Hochgradige Anämie und Hämoglobinurie ließen jedoch auf hohe Parasitämien schließen. Die Parasitämie der *B. galagolata*- infizierten Mäuse betrug beim Abfallen der ersten Nymphen 580 ‰ und stieg bis zum 8. Tag auf 810 ‰ an.

Auf 22 nicht entmilzte Mäuse wurden je 2 nicht infizierte Zeckenpaare verbracht. Nach 14 Tagen hatten auf 5 Mäusen Zeckenpaare angebissen und fielen nach 6,8,9 und 10 Saugtagen von den jeweils mit *B. rodhaini* infizierten Wirtsmäusen ab. Die Mäuse gingen noch am letzten Saugtag, spätestens am Tag darauf ein, was auf hohe Parasitämien rück-schließen ließ. Die restlichen Zecken nahmen die Maus als Wirtstier nicht an und wurden nach 16 Tagen wieder abgenommen. Zu den Infektionsversuchen mit *B. galagolata* wurden 16 Mäuse mit je 2 und weitere 12 Mäuse mit 1 Zeckenpaar besetzt. Nach 9 Tagen hatten auf 5 Mäusen Zecken angebissen;

diese Mäuse wurden am Tag des Anbeißen infiziert. Von 4 Mäusen konnten nach 7- 10 Saugtagen vollgesogene Zeckenweibchen zurückgewonnen werden. Bei der Repletion betrug die Parasitämie zwischen 240 und 680 ‰. Das 5. Zeckenpaar, das die Blutmahlzeit aufgenommen hatte, wurde von seiner Wirtsmaus vorzeitig abgerissen (Tab.3).

b. *Rhipicephalus sanguineus*

6 *Babesia rodhaini*- und ebensoviele *B. galagolata*- infizierte Mäuse wurden 2 Tage p.i. mit je ca. 800 ungesogenen Zeckenlarven besetzt. Nach 3- 5 Saugtagen fielen pro Maus etwa 300 vollgesogene Larven ab. Die Parasitämie während der Saugperiode betrug 460 ‰ und mehr bei *B. rodhaini*, 200 - 590 ‰ bei *B. galagolata* (Tab.1).

12 nicht entmilzte und 12 entmilzte Mäuse wurden mit je 25 nicht infizierten Nymphen besetzt und gleichzeitig mit *B. rodhaini* bzw. *B. galagolata* infiziert. Die Nymphen saugten sich nach 4- 9 Tagen voll (Tab.2). Die Parasitämie der Mäuse stieg bei *B. rodhaini* von 180 ‰ am 4. Tag p.i. auf 410 ‰ und höher an den folgenden Tagen an. Von den *Babesia galagolata*- infizierten Mäusen fielen die Zecken bei Parasitämien zwischen 420 und 760 ‰ ab.

Auf 22 Mäusen wurden je 2 Zeckenpaare angesetzt. Nach 14 Tagen hatten 8 Zeckenpaare angebissen, die übrigen mußten wieder abgenommen werden, um sie vor dem Vertrocknen zu bewahren. Die 8 Mäuse, die als Wirtstiere angenommen worden waren, wurden mit *Babesia rodhaini* infiziert, wenn eine deutliche Umfangsvermehrung bei den saugenden Zeckenweibchen zu erkennen war (zwischen 2. und 5. Saugtag). Die *Rh. sanguineus*- Weibchen benötigten 8- 11 Tage für ihre Blutmahlzeit. Zur Fütterung mit *B. galagolata*- infiziertem Blut wurden 28 entmilzten Mäusen je 2 Zeckenpaare angesetzt. 11 vollgesogene Weibchen konnten zurückgewonnen werden. Die Parasitämie der am zweiten Tag nach dem Anbeißen der Zecken infizierten Mäuse betrug bei der Repletion 390- 600 ‰ (Tab.3).

Zeckenart	Gesamtzahl (geschätzt) der Larven		Anzahl der Wirtstiere		Saugdauer (Tage)	geschätzte Zahl abgefallener Larven		Parasitämie am Abfalltag in %	
	B.r.	B.g.	B.r.	B.g.		B.r.	B.g.	B.r.	B.g.
Rhipicephalus appendiculatus	8000	8000	8	8	4-7	1450	1600	440- 840	320- 760
Rhipicephalus sanguineus	4800	4800	6	6	3-5	1500	1500	460- 880	200- 590
Hyalomma a. excavatum	12000	12000	12	12	4-7	2500	2500	440- 840	190- 690

Tab. 1: Versuche zur alimentären Infektion von Zeckenlarven mit Babesia rodhaini (B.r.) und Babesia galagolata (B.g.).

Zeckenart	Gesamtzahl angesetzter Nymphen		Anzahl der Wirtsmäuse		Saugdauer (Tage)	Gesamtzahl abgefallener Nymphen		Parasitämie beim Abfallen der Nymphen in %	
	B.r.	B.g.	B.r.	B.g.		B.r.	B.g.	B.r.	B.g.
Rhipicephalus appendiculatus	420	420	12	12	4-8	302	284	über 400	380- 810
Rhipicephalus sanguineus	300	300	12	12	4-9	243	190	180- 880	420- 760
Hyalomma a. excavatum	150	150	6	6	7-10	128	131	über 700	640- 750

Tab. 2: Versuche zur alimentären Infektion von Zeckennymphen mit *Babesia rodhaini* (B.r.) und *Babesia galagolata* (B.g.).

c. *Hyalomma anatolicum excavatum*

Je 12 als Wirtstiere für eine infektiöse Blutmahlzeit der Larven vorgesehene Mäuse wurden mit *B. rodhaini* und mit *B. galagolata* infiziert und gleichzeitig mit ungesogenen Larven bestrichen, die vollgesogen vom 4. bis zum 7. Tag wieder abfielen. Insgesamt konnten etwa 2500 Larven vollgesogen von *B. rodhaini*- infizierten Mäusen und fast ebensoviele von *B. galagolata*- infizierten Tieren zurückgewonnen werden. Die Parasitämie betrug am 4. Tag 440 % bei *B. rodhaini* und 190 % bei *B. galagolata* und stieg bis zum 7. Tag auf 840 bzw. 690 % an (Tab.1).

Auf 12 Mäusen wurden je 25 nicht infizierte Nymphen angesetzt. Am Tag darauf wurden 6 Mäuse mit *B. rodhaini* und 6 mit *B. galagolata* infiziert. Die Nymphen hatten in 7- 10 Tagen ihre Blutmahlzeit beendet (Tab.2). Die durchschnittliche Parasitämie während der Endphase der Saugperiode betrug bei *B. rodhaini* über 700 %, bei *B. galagolata* etwa 660 %.

36 nicht entmilzten Mäusen wurde jeweils 1 Zeckenpaar angesetzt. Nach 11 Tagen erhielten die 16 Mäuse, auf denen Zecken angebissen hatten, eine *B. rodhaini*- Infektion. Die Zeckenweibchen waren 6- 8 Tage nach der Infektion ihrer Wirtstiere vollgesogen. Die dazugehörigen Männchen, die noch nicht von ihren Wirtstieren abgelassen hatten, wurden mit der Pinzette entfernt und sofort mit je einem ungesogenen Weibchen 8 anderen Mäusen angesetzt. Bei diesem Versuch bissen alle Weibchen innerhalb von 2 Tagen an und ließen nach 7- 8 Saugtagen von den zwischenzeitlich infizierten Mäusen ab. Die übrigen Versuche mußten abgebrochen werden, weil die Zecken die Mäuse als Wirtstiere nicht annahmen. Zur Infektion mit *Babesia galagolata* wurden 36 Zeckenpaare einer gleichen Anzahl entmilzter Mäuse angesetzt. Die Mäuse wurden erst infiziert, wenn ein Zeckenpaar angebissen hatte. 2 Wochen nach dem Besatz hatten 20 Paare den Saugakt aufgenommen und konnten vollgesogen zurückgewonnen werden; die Blutmahlzeit dauerte 7- 8, in zwei Fällen 11 bzw.

Zeckenart	angesetzte Zeckenpaare		Anzahl der Wirtstiere		Saugdauer in Tagen		vollgesogene Weibchen		Parasitämie beim Abfallen in %	
	B.r.	B.g.	B.r.	B.g.	B.r.	B.g.	B.r.	B.g.	B.r.	B.g.
Rhipicephalus appendiculatus	44	44	22	28	6-10	7-10	5	5 ⁽¹⁾	über 700	240- 680
Rhipicephalus sanguineus	44	56	22	28	8-11	8-11	8	11	über 700	390- 600
Hyalomma a. excavatum	36	36	36	36	6-8	7-15	24	20	über 700	540- 700

Tab. 3: Versuche zur alimentären Infektion adulter Zecken mit *Babesia rodhaini* (B.r.) und *Babesia galagolata* (B.g.).

⁽¹⁾ Ein Zeckenpaar vor Beendigung der Blutmahlzeit abgerissen.

15 Tage. Die Parasitämien der Mäuse lagen beim Absammeln der Zecken zwischen 540 und 700 ‰. Mit den übrigen Zecken konnten die Infektionsversuche nicht durchgeführt werden, weil sie den Saugakt innerhalb von 2 Wochen nicht aufnahmen (Tab.3).

3. Versuche zum Nachweis einer Babesieninfektion der Zecken im Anschluß an die infektiöse Blutmahlzeit.

Die lichtmikroskopische Untersuchung der Larven- und Nymphenquetschpräparate erbrachte in keinem Fall den Nachweis für eine extravertebrale Weiterentwicklung der Babesien. In den Mäusen, die mit Suspensionen zerriebener Zecken beimpft worden waren, konnten von allen innerhalb von 24^h p.r. weiterverimpften Larven und von den Rh. appendiculatus- Nymphen Parasitämien ausgelöst werden (Tab.4). Zecken, die nach mehr als 24^h p.r. zerrieben und an Mäuse verimpft worden waren, verursachten keine Parasitämien mehr. Mit zerriebenen Rh. sanguineus- und Hyalomma anatolicum excavatum- Nymphen konnten Mäuse nicht infiziert werden. Alle bei der anschließenden Blindpassage injizierten Mäuse blieben ebenfalls negativ.

Bei den 5 bzw. 4 Rhipicephalus appendiculatus- Paaren, die zur Blutaufnahme auf Babesia rodhaini- bzw. B. galagolata- infizierten Mäusen gebracht worden waren, konnten am 5. Tag p.r. in den Hämolympheausstrichen keine Babesienformen nachgewiesen werden. Auf Organpräparate mußte wegen der geringen Anzahl vollgesogener Zeckenweibchen verzichtet werden. 3 auf Babesia rodhaini- und 4 auf B. galagolata- infizierten Mäusen gefütterte Zeckenweibchen nahmen die Eiablage auf; weder in den Eierquetschpräparaten noch in den mit Eiersuspensionen beimpften Mäusen fanden sich Babesien. Von 5 Rh. sanguineus- Männchen und -Weibchen jeder Charge wurden Hämolympheausstriche untersucht, von 3 anderen Weibchen jeder Charge Speicheldrüsen- und Ovarienquetschpräparate. Auch hier waren Babesien nicht nachweisbar. 11 auf

Babesia rodhaini- sowie 6 auf *B. galagolata*- infizierten Mäusen gefütterte *Rh. sanguineus*- Weibchen legten Eier. Der Nachweis einer Babesieninfektion gelang weder in mit zerriebenen Eiern inokulierten Mäusen noch in Eierquetschpräparaten.

Von 10 *Hyalomma anatolicum excavatum*- Männchen und 5 Weibchen wurden mehrmals zwischen 5. und 47. Tag p.r. Hämolympheausstriche untersucht; dieselbe Untersuchung wurde mit 10 männlichen und ebensovielen weiblichen Zecken zwischen 5. und 10. Tag nach dem Abfallen von *Babesia galagolata*- infizierten Mäusen durchgeführt. Weder in der Hämolymphe noch in den Ovarien und Speicheldrüsen weiterer 3 Weibchen jeder Charge ergaben sich Hinweise auf eine extra-vertebrale Weiterentwicklung der beiden Babesienarten. 10 auf *B. rodhaini*- und 17 auf *B. galagolata*- infizierten Mäusen gezüchtete *Hyalomma*- Weibchen nahmen zwischen 6. und 90. Tag p.r. die Eiablage auf; auch hier war die Untersuchung negativ.

4. Versuche zum Nachweis einer Babesieninfektion der Zecken durch natürliche Weiterübertragung.

Fütterung von *Rhipicephalus appendiculatus*

Zwischen 1 und 3 Wochen nach der Häutung wurden 135 Nymphen, die als Larven auf *Babesia rodhaini*- infizierten Mäusen (*rodhaini*- Zecken), sowie 210 Nymphen, die im Larvenstadium auf *B. galagolata*- infizierten Mäusen gefüttert worden waren (*galagolata*- Zecken), 7 bzw. 10 empfänglichen Mäusen zur Blutaufnahme angesetzt. Von den *rodhaini*- Zecken konnten 57, von den *galagolata*- Zecken 128 vollgesogen zurückgewonnen werden. Bei keiner der Mäuse konnten in Blutausstrichen oder der Blindpassage Babesien gefunden werden. Eine Übertragung von Babesien vom Larven- auf das Nymphenstadium erfolgte demnach nicht.

22 bzw. 42 *Rh. appendiculatus*- Paare, die als Larven Gelegenheit zur Aufnahme eines infektiösen Blutmahls hatten,

Babesien- art	Larven von			Nymphen von
	Rhipicephalus appendiculatus	Rhipicephalus sanguineus	Hyalomma a. excavatum	
	Tage bis zum Auftreten von Babesien im Elutausstrich der beimpften Mäuse			
Babesia rodhaini	4	5	5	7
Babesia galagolata	8	12	11	13

Tab. 4: Verimpfung zerriebener Zecken 0 - 24 Stunden nach dem Abfall von babesieninfizierten Wirtstieren.

wurden etwa 4- 6 Wochen nach der Häutung je 22 empfänglichen Mäusen angesetzt. 2 rodhaini- sowie 5 galagolata-Paare konnten auf ebensovielen Mäusen zur Blutaufnahme gebracht werden. In den Wirtstieren wurden keine Babesien nachgewiesen. Von den restlichen Adulten saugten sich noch 13 rodhaini- und 15 galagolata- Weibchen auf den Kaninchen voll. Es war also auch eine im Larvenstadium stattgehabte Babesieninfektion durch adulte Zecken nicht übertragbar. Larven der Zeckenweibchen, die im Larvenstadium auf babesieninfizierten Mäusen, im Nymphen- und Adultenstadium auf nicht infizierten Mäusen oder Kaninchen gefüttert worden waren, wurden etwa 2- 3 Wochen nach dem Schlupf empfänglichen Mäusen zur Blutaufnahme angesetzt. Die Larven eines Zeckenweibchens wurden jeweils auf 2 Mäuse verteilt. Es konnten Larven von 11 rodhaini- und 15 galagolata- Zecken untersucht werden; die restlichen rodhaini- Weibchen sind noch vor der Eiablage eingegangen. Die Untersuchung der Wirtsmäuse verlief negativ. Eine transovariale Übertragung fand demnach nicht statt.

52 Zeckenpaare, die sich aus *Babesia rodhaini*- gefütterten Nymphen, und 44 Paare, die sich aus *B. galagolata*- gefütterten Nymphen entwickelt hatten, wurden im 2. Monat nach der Häutung je 22 Mäusen angesetzt. 8 rodhaini- und 7 galagolata- Weibchen saugten sich auf Mäusen, weitere 18 bzw. 4 auf Kaninchen voll. Eine Übertragung vom Nymphen- auf das Adultenstadium war nicht möglich. Auch verliefen Übertragungsversuche mit Larven, die sich aus den Eiern dieser Zeckenweibchen entwickelt hatten, negativ.

Die Nachkommen von 3 auf *B. rodhaini*- und 4 auf *B. galagolata*- infizierten Mäusen gefütterten Zeckenweibchen konnten ihre Wirtstiere ebenfalls nicht infizieren.

Die Übertragungsversuche mit der Zeckenart *Rhipicephalus appendiculatus* sowie die Untersuchungen mit *Rh. sanguineus*- und *Hyalomma anatolicum excavatum*- Zecken zur natürlichen

Weiterübertragung von *Babesia rodhaini* und *B. galagolata* sind in den Tabellen 5 bis 7 zusammengefaßt. Keine der drei Zeckenarten übertrug Babesien auf empfängliche Mäuse.

Zeckenart	Nymphenstadium		Adultenstadium		F ₁ - Larvenstadium	
	Versuchs- beginn (Wochen nach Häu- tung)	Nymphen ange- setzt sogen	Versuchs- beginn (Wochen nach Häu- tung)	Adulte ange- setzt sogen	Versuchs- beginn (Wochen nach Schlupf)	Gelege unter- sucht
		$\frac{\text{B.r.}}{\text{B.g.}}$		$\frac{\text{B.r.}}{\text{B.g.}}$		$\frac{\text{B.r.}}{\text{B.g.}}$
Rhipicephalus appendiculatus	1-3	$\frac{135}{210}$ $\frac{57}{128}$	4-6	$\frac{22}{42}$ $\frac{2}{5}$	2-3	$\frac{11}{15}$
Rhipicephalus sanguineus	2-4	$\frac{150}{150}$ $\frac{65}{92}$	5-8	$\frac{22}{22}$ $\frac{10}{14}$	4-5	$\frac{20}{22}$
Hyalomma a. excavatum	1-3	$\frac{240}{240}$ $\frac{176}{136}$	26-30	$\frac{22}{22}$ $\frac{4}{9}$	5-8	$\frac{13}{31}$

Tab. 5: Untersuchungen über die Möglichkeit einer Weiterübertragung von Babesia rodhaini (B.r.) und Babesia galagolata (B.g.) durch Rhipicephalus appendiculatus, Rh. sanguineus und Hyalomma anatolicum excavatum, nachdem die Larven auf infizierten Mäusen gesaugt haben.

- Es erfolgte keine Weiterübertragung. -

Zeckenart	Adultenstadium		F ₁ - Larvenstadium	
	Versuchsbeginn (Wochen nach Häutung)	Adulte angesetzt	Adulte vollgesogen	Versuchsbeginn (Wochen nach Schlupf)
		$\frac{\text{B.r.}}{\text{B.g.}}$	$\frac{\text{B.r.}}{\text{B.g.}}$	Gelege untersucht $\frac{\text{B.r.}}{\text{B.g.}}$
Rhipicephalus appendiculatus	5-8	$\frac{52}{44}$	$\frac{8}{7}$	$\frac{22}{10}$
Rhipicephalus sanguineus	5-8	$\frac{28}{30}$	$\frac{10}{8}$	$\frac{28}{29}$
Hyalomma a. excavatum	14-16	$\frac{22}{22}$	$\frac{7}{7}$	$\frac{7}{7}$

Tab. 6: Untersuchungen über die Möglichkeit einer Weiterübertragung von Babesia rod-haini (B.r.) und Babesia galagolata (B.g.) durch Rhipicephalus appendiculatus, Rh. sanguineus und Hyalomma anatolicum excavatum, nachdem die Nymphen auf infizierten Mäusen gesaugt haben.

- Es erfolgte keine Weiterübertragung. -

Zeckenart	Versuchsbeginn (Wochen nach dem Schlupf)	Gelege	
		untersucht B.r. B.g.	babesienpositiv B.r. B.g.
Rhipicephalus appendiculatus	2-3	3 4	0 0
Rhipicephalus sanguineus	4-5	5 8	0 0
Hyalomma a. excavatum	7-8	18 17	0 0

Tab. 7: Untersuchungen über die Möglichkeit einer transovarialen Weiterübertragung von Babesia rodhaini (B.r.) und Babesia galagolata (B.g.).

D. Besprechung der Ergebnisse

Ziel der Untersuchungen sollte die Isolierung eines babesienübertragenden Zeckenstammes sein, um ein Labormodell für weitere Untersuchungen dieser Babesienarten im Vektor zu haben.

Bei keiner der drei untersuchten Zeckenarten konnte eine extravertebrale Babesienentwicklung nachgewiesen werden. Damit verlief die Suche nach einem natürlichen Vektor von *Babesia rodhaini* ebenso ergebnislos wie die von AESCHLI-MANN und SUTER (1965) und von BRANAGAN (1973); mit *Babesia galagolata* wurden von anderen Autoren noch keine Zeckeninfektionsversuche durchgeführt.

Babesia galagolata ist während der Untersuchungen virulenter geworden. Es wurden sowohl in entmilzten als auch in nicht entmilzten Labormäusen Parasitämien von über 800 % beobachtet. Vereinzelt traten, meist einige Tage nach Überschreitung des Piks, Todesfälle auf. Die Virulenzsteigerung ist eine des öfteren beschriebene Erscheinung nach abschließend experimenteller Übertragung von Piroplasmen. RODHAIN (1950) und BEVERIDGE (1953) berichteten von der Virulenzzunahme bei *Babesia rodhaini* nach mehreren Passagen, ADLER und FELDMAN-MUHSAM (1952a) bei *Nuttallia adleri* nach wiederholten Passagen in Mäusen, SCHENK (1968) nach der dritten intraperitoneal durchgeführten Übertragung von *Babesia herpailuri* auf den Hund.

Eine mögliche Erklärung für das Mißlingen der Infektionsversuche könnte sein, daß die verwendeten Zeckenstämme gegen beide Babesienstämme immun sind. Nach HOFFMANN (1971) hängt die Übertragung von Rinderbabesien nicht nur vom Vorhandensein eines übertragungsfähigen Zeckenstammes ab, sondern auch von der Gegenwart eines für diesen Überträger spezifischen Babesienstammes. Bei seinen Versuchen mit *Boophilus annulatus* und *Babesia bigemina* stellte er sogar eine unterschiedliche Infizierbarkeit von Zecken gleicher Art

und eine individuell unterschiedliche Spezifität der Zecken innerhalb einer Stammesgeneration fest.

Ein anderer Grund für das negative Ergebnis könnte ein Infektositätsverlust der beiden Babesienarten für Zecken infolge ausschließlich experimenteller Passagen sein. FRIEDHOFF und Mitarb. (1976) konnten nur noch 0,1 % der auf *Babesia bigemina*-infizierten Rindern gefütterten *Boophilus*-Zeckenweibchen infizieren, wenn es sich bei dem Babesienstamm um einen mehrmals mit der Spritze passagierten handelte; die Infektionsrate auf zeckeninfizierten Wirtstieren betrug dagegen bis zu 49 %. CALLOW und HOYTE (1961) sowie JOYNER und Mitarb. (1963) stellten jedoch nach wiederholten mechanischen Passagen mit *Babesia bigemina* und *B. divergens* fest, daß beide Arten für Zecken infektiös blieben. JOYNER und Mitarb. (1963) schlossen allerdings die Möglichkeit eines gewissen Infektositätsverlustes nicht aus. HADANI und THEODOR (1973) verneinen die Frage, ob die Infektionsart eine Rolle für die Infektionsrate von *Hyalomma excavatum* mit *Nuttallia meri* spielt.

Für das Mißlingen könnten schließlich Fehler in der Methodik verantwortlich sein. Die angewandten Infektions- und Nachweismethoden wurden jedoch alle von funktionierenden Übertragungsmodellen übernommen. Die Infektionsversuche erfolgten auf Wirtstieren, deren Parasitämie noch im Ansteigen bzw. kurz vor dem Höhepunkt war. Unter dieser Voraussetzung wurden von HADANI und THEODOR (1973) die höchsten Infektionsraten bei *Hyalomma excavatum* mit *Nuttallia meri* erzielt. HOFFMANN (1971) hält die Parasitämiehöhe während der letzten 48 Stunden des Saugaktes der Zecken als entscheidend für das Angehen der Parasiten.

Während der Evertbralphasen wurden die Zecken niemals Temperaturen unter 18°C und über 35°C ausgesetzt. Innerhalb dieser Grenzwerte trat bei den von KRYLOVA und KRYLOV (1968) sowie von HADANI und THEODOR (1971) mit Nuttallien infizierten *Hyalomma*-Zecken keine "Sterilisierung" ein.

Ein Übersehen extravertebraler Babesienentwicklungsstadien in Zecken und Zeckenorganen scheint ausschließbar zu sein, da diese in bekannten Übertragungsmodellen in großer Anzahl vorhanden sind und leicht nachgewiesen werden können. FELDMAN-MUHSAM (1958) konnte während der gesamten Metamorphose Nuttallien- infizierter *Rhipicephalus secundus*-Larven Entwicklungsstadien nachweisen. HADANI und THEODOR (1972) fanden in *Hyalomma excavatum*- Larven während der ersten 30- 40 Stunden nach dem Abfallen von *Nuttallia adleri*- infizierten Gerbils noch unabgebaute Trophozoiten, gleichzeitig jedoch bereits extravertebrale Entwicklungsformen. Die erythrozytären Formen waren in späteren Präparaten nicht mehr vorhanden; dagegen blieben Schizonten und Merozoiten während der gesamten Häutungsperiode nachweisbar. FRIEDHOFF (1969) wies in Organpräparaten von *Rhipicephalus bursa*- Weibchen ab dem fünften Tag nach der Repletion von *Babesia ovis*- infizierten Wirtstieren Merozoiten und Teilungskörper in großer Zahl nach. Die in meinen Untersuchungen nach Verimpfung von Suspensionen zerriebener Zecken aufgetretenen Parasitämien können nur von erythrozytären Babesienstadien hervorgerufen worden sein, die sich noch unabgebaut im Zeckendarm befanden. Diese Schlußfolgerung machen auch IRVIN und BROCKLESBY (1972) nach ihren negativ verlaufenen Übertragungsversuchen von *Babesia microti* auf *Rhipicephalus appendiculatus*. Sie konnten in Quetschpräparaten soeben abgefallener Zeckenlarven erythrozytäre Stadien, extravertebrale jedoch zu keiner Zeit nachweisen. Die Zeiten zwischen Infektionsversuch und Wiederansetzen des nächsten Zeckenstadiums waren, außer vom Nymphen- zum Adultenstadium, nie länger als 42 Tage. FELDMAN-MUHSAM (1958) konnte Nuttallien durch Zeckennymphen noch 70- 77 Tage nach der Repletion des vorangegangenen Larvenstadiums übertragen.

Die Zahl der pro Maus angesetzten Zecken hing von der Blutentnahme der einzelnen Stadien ab. Zur Untersuchung der

im Larvenstadium erworbenen Infektion wurden einer Maus mindestens 12 Nymphen angesetzt, von denen in keinem Fall weniger als 6 die Blutmahlzeit aufnahmen. HADANI und THEODOR (1971) konnten *Nuttallia adleri* mit nur zwei *Hyalomma excavatum*- Nymphen auf einen Gerbil übertragen.

Die Untersuchungsdauer der Versuchstiere von 56 Tagen, einschließlich der Blindversuche, schien ausreichend zu sein, um eine Babesienübertragung zuverlässig nachweisen zu können. TSUR und Mitarb. (1960) beobachteten bei der natürlichen Übertragung von *Nuttallia dani* durch *Hyalomma excavatum*- Nymphen eine Präpatenzzeit von höchstens 13 Tagen. KRYLOV (1964) konnte bei der Übertragung von *Nuttallia tadjikistanica* durch *Hyalomma anatolicum*- Nymphen schon 4 Tage später in den Wirtstieren Parasitämien nachweisen. GUNDERS und HADANI (1973), denen die Infektion von drei Sandratten mit *Nuttallia meri* sowohl durch Verimpfung zerriebener *Ornithodoros erraticus*- Nymphen und -Adulten als auch durch den natürlichen Saugakt gelang, stellten Inkubationszeiten von 13- 27 Tagen fest.

Für die Untersuchungen mit den adulten Zecken erwies sich die Labormaus als ungeeignet, da sie nicht sofort als Wirtstier akzeptiert wird und nur jeweils ein Zeckenpaar pro Maus gefüttert werden kann. Die wenigen von mir auf der Maus durchgeführten Infektions- und Übertragungsversuche sind nicht repräsentativ genug, um die Möglichkeit einer Infektionsfähigkeit ausschließen zu können. In freier Natur scheinen adulte Schildzecken als Überträger von Babesien auf kleine Nager nicht in Frage zu kommen, da die Tiere einen für die Blutaufnahme notwendigen mehrtägigen Aufenthalt der Zecken auf ihrem Körper im allgemeinen nicht zulassen würden.

E. Zusammenfassung

Die Möglichkeit der Infektion der Zeckenarten *Rhipicephalus appendiculatus*, *Rh. sanguineus* und *Hyalomma anatolicum excavatum* mit *Babesia rodhaini* und *B. galgolata* wurde untersucht. Nachdem die Zecken im Larvenstadium auf babesien-infizierten Labormäusen gefüttert worden waren, wurden mit den folgenden Nymphen- und Adultenstadien sowie den Larven der F_1 - Generation Rückübertragungsversuche durchgeführt. Weitere Zecken, die im Nymphen- bzw. Adultenstadium ihre infektiöse Mahlzeit gehalten hatten, wurden ebenfalls bis zum Larvenstadium der nächsten Generation untersucht. Außerdem wurden im Anschluß an die infektiösen Blutmahlzeiten direkte Nachweisversuche unternommen. In keinem Fall konnten Anzeichen einer extravertebralen Weiterentwicklung der Parasiten festgestellt werden.

Von Larven aller drei Zeckenarten sowie von *Rh. appendiculatus*- Nymphen konnten, wenn sie innerhalb von 24 Stunden nach dem Abfallen von infizierten Mäusen zerrieben und an empfangliche Mäuse weiterverimpft worden waren, Parasitämien ausgelöst werden.

Bei *Babesia galgolata* trat im Verlauf der Untersuchungen eine Virulenzsteigerung ein. In der 20. mit der Spritze durchgeführten Mäusepassage lagen die Parasitämiepeaks bei 200 bis 220 ‰. Nach der 31. Passage vermehrten sich die Parasiten sowohl in entmilzten als auch in nicht entmilzten Mäusen auf über 800 ‰; der Parasitämiehöhepunkt wurde im allgemeinen am 8. Tag post infectionem erreicht.

Investigations into the possibility of infection of the tick species *Rhipicephalus appendiculatus*, *Rh. sanguineus* and *Hyalomma anatolicum excavatum* with *Babesia rodhaini* and *B. galagolata*.

Summary

The possibility to infect the tick species *Rhipicephalus appendiculatus*, *Rh. sanguineus* and *Hyalomma anatolicum excavatum* with *Babesia rodhaini* and *B. galagolata* was investigated. Larvae, nymphs and adults of the ticks were fed on *Babesia*- infected white mice. All instars up to the next larval generation following the stage which was fed on infected mice were placed on susceptible splenectomized mice. Neither stage-to-stage nor transovarial transmission of *Babesia* could be demonstrated. Microscopic examination of squash preparations of whole larvae and nymphs as well as those of ovaries and salivary glands and haemolymph from adults, carried out shortly after repletion, never revealed any extravertebrate developmental stages of *Babesia*.

Inoculation of splenectomized mice with triturated larvae of all three tick species as well as *Rhipicephalus appendiculatus*- nymphs resulted in infection with both *Babesia* parasites only when carried out within 24 hours after drop off.

With *Babesia galagolata* an increase of virulence was observed during the experiments. After the 20th syringe passage the peaks of parasitaemia reached 200 to 220 ‰. After the 31st passage the parasitaemia reached a maximum of 800 ‰ in splenectomized as well as in intact mice, already on day 8 after infection.

F. Literaturverzeichnis

1. Adler, S., B. Feldman-Muhsam (1952a): Infection of suckling mice with a *Nuttallia* of *Meriones tristrami*. Bull. Res. Council of Israel 2, 201- 202.
2. Adler, S., B. Feldman-Muhsam (1952b): Transmission of a *Nuttallia* of a gerbil by *Rhipicephalus sanguineus*. Nature 169, 552.
3. Aeschlimann, A., H. Suter (1965): A propos de *Babesia rodhaini*. Acta trop. 22, 303- 320.
4. Bailey, K.P. (1960): Notes on the rearing of *Rhipicephalus appendiculatus* and their infection with *Theileria parva* for experimental transmission. Bull. epiz. Dis. Afr. 8, 33- 43.
5. Berghe, L., I.H. Vincke, M. Chardome, M. Bulcke (1950): *Babesia rodhaini* n. spec. d'un rongeur du Congo Belge transmissible à la souris blanche. Ann. Soc. Belg. Méd. Trop. 30, 83- 86.
6. Beveridge, E. (1953): *Babesia rodhaini*. A useful organism of piroplasmosis. Ann. trop. Med. Parasit. 47, 134- 138.
7. Branagan, D. (1973): Tick research. In: Annual report 1972- 1973, 23- 25. Centre for Tropical Medicine, Royal (Dick) School of Veterinary Studies, Midlothian, U.K.
8. Büngener, W. (1967): Die Vermehrungsgeschwindigkeit von *Plasmodium berghei*, *Plasmodium vinckei* und *Babesia rodhaini*. Z. Tropenmed. Parasit. 18, 463- 466.
9. Callow, L.L., H.M.D. Hoyte (1961): Transmission experiments using *Babesia bigemina*, *Theileria mutans*, *Borrelia* sp. and the cattle tick, *Boophilus microplus*. Aust. Vet. J. 37, 381- 390.

10. Cox, F.E.G., A.S. Young (1969): Acquired immunity to *Babesia microti* and *Babesia rodhaini* in mice. *Parasitology* 59, 257- 268.
11. Dennig, H.K. (1973): *Babesia galagolata* n. spec., eine Babesienart des Galagos (*Galago crassicaudatus*). *Z. Parasitenk.* 41, 281- 290.
12. Elbl, A., G. Anastos (1966): Ixodid ticks (Acarina, Ixodidae) of Central Africa. Vol. III, Tervuren.
13. Feldman-Muhsam, B. (1958): A note on transmission of a *Nuttallia* of *Meriones shawi* by the tick *Rhipicephalus secundus*. *J. Protozool.* 5, 225- 226.
14. Frère, G. (1974): Untersuchungen zur Chemotherapie der *Babesia galagolata*- Infektion der Maus. *Vet. med. Diss. München.*
15. Friedhoff, K. (1969): Lichtmikroskopische Untersuchungen über die Entwicklung von *Babesia ovis* (Piroplasmidea) in *Rhipicephalus bursa* (Ixodoidea). *Z. Parasitenk.* 32, 191- 219.
16. Friedhoff, K.T., G. Büscher, G. Weber, T.A. El-Allawy, M. Muangyai (1976): Entwicklung der Babesien: Morphologische und quantitative Untersuchungen. 7. Tagung der Dt. Ges. f. Parasit., Berchtesgaden.
17. Gunders, A.E., A. Hadani (1973): An argasid tick, *Ornithodoros erraticus* (Lucas) a natural vector of *Nuttallia meri* Gunders. *Z. Tropenmed. Parasit.* 24, 536- 538.
18. Hadani, A., O. Theodor (1971): Studies on the transmission of *Nuttallia danii* (Tsur, Hadani and Pipano, 1960) by ticks to the gerbil (*Meriones tristrami*). *J. Protozool.* 18, Suppl. 126.

19. Hadani, A., O. Theodor (1972): Life cycle of *Nuttallia danii* (Tsur, Hadani and Pipano, 1960) in the tick *Hyalomma excavatum*. J. Protozool. 19, Suppl. 151.
20. Hadani, A., O. Theodor (1973): Factors affecting the rate of infection of *Hyalomma excavatum* nymphs with *Nuttallia danii* (Tsur, Hadani and Pipano, 1960). J. Protozool. 20, 532.
21. Hösl, G. (1974): Untersuchungen zur Wirtsspezifität von *Babesia galagolata*. Vet. med. Diss. München.
22. Hoffmann, G. (1971): Infizierbarkeit verschiedener Boophilusstämme mit *Babesia bigemina* sowie Beeinflussung der Zecken durch Wirt oder Parasit. Z. Tropenmed. Parasit. 22, 270- 284.
23. Hoogstraal, H. (1956): African Ixodoidea. Vol. I: Ticks of the Sudan. Res. Rep. NM 005 050.29.07.
24. Irvin, A.D., D.W. Brocklesby (1972): Attempts to transmit *Babesia* (*Nuttallia*) *microti* in laboratory mice by the tick *Rhipicephalus appendiculatus*. Int. J. Parasit. 2, 99- 103.
25. Joyner, L.P., S.F.M. Davies, S.B. Kendall (1963): The experimental transmission of *Babesia divergens* by *Ixodes ricinus*. Exp. Parasit. 14, 367- 373.
26. Kaiser, M.N., H. Hoogstraal (1964): The *Hyalomma* ticks (Ixodoidea, Ixodidae) of Pakistan, India and Ceylon with keys to subgenera and species. Acarologia 6, 257- 286.
27. Krylov, M.V. (1964): On the development of some Piroplasmidae in the vertebrate hosts. In Russisch Acta Protozool. 2, 307- 320.
28. Krylova, N.P., M.V. Krylov (1968): The effect of temperature on the development of *Nuttallia tadjzhikistanica* in *Hyalomma anatolicum*. In Russisch Parasitologija 2, 179- 184.

29. Neitz, W.O. (1956): A consolidation of our knowledge of the transmission of tick- borne diseases. Onderstepoort J. Vet. Res. 27, 115- 163.
30. Nowell, F. (1969): The blood picture resulting from Nuttallia (Babesia) rodhaini and Nuttallia (Babesia) mictoti infections in rats and mice. Parasitology 59, 991- 1004.
31. Nuttall, G.H.F. (1915): Observation on the biology of the Ixodidae. Parasitology 7, 408- 456.
32. Paget, G.E., S.J. Alcock, J.F. Ryley (1962): The pathology of Babesia rodhaini infection in mice. J. Path. Bact. 84, 218- 220.
33. Rodhain, J. (1950): Sur la pluralité des espèces de Babesia des rongeurs. A propos de la spécificité de Babesia rodhaini, van den Berghe et al. Ann. Inst. Pasteur 79, 777- 785.
34. Schenk, V. (1968): Untersuchungen über Passagen von Babesia herpailuri im Hund und die immunologische Verwandtschaft des Parasiten zu Babesia canis und Babesia gibsoni. Vet. med. Diss. München.
35. Snow, K.R. (1969): The life history of Hyalomma anatolicum anatolicum Koch, 1844 (Ixodoidea, Ixodidae) under laboratory conditions. Parasitology 59, 105- 122.
36. Srivastava, S.C., M.G.R. Varma (1964): The culture of the tick Rhipicephalus sanguineus (Latreille) (Ixodidae) in the laboratory. J.Med.Ent. 1, 154-157.
37. Theiler, G. (1941): Ticks in the South African zoological survey collection. Part I. Ixodes alluaudi Neumann, 1912, a primitive tick parasitic on shrews. Onderstepoort J. Vet. Sci. 17, 51- 60.

38. Tsur, I., A. Hadani, E. Pipano (1960): *Nuttallia danieli* n. sp. - a haemoprotazoan from the gerbil (*Meriones tristrami shawii*). *Refuah Veterinarith* 17, 244- 236.

Es ist mir ein aufrichtiges Anliegen, meinem verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. Dr. h.c. J. Boch für die Überlassung des Themas und für die Betreuung der Arbeit herzlich zu danken.

Ebenfalls bedanke ich mich bei Herrn Dr. C. Centurier, der mir jederzeit mit Rat und Tat zur Seite stand.

Lebenslauf

Am 28. März 1947 wurde ich als erstes Kind des Kriminalbeamten Johann Wöhrle und seiner Ehefrau Therese, geborene Mühlhuber, in Nürnberg geboren.

Nach dem Besuch der Volksschule an der Bauernfeindstraße in Nürnberg von 1953 bis 1957, des Willstätter- Gymnasiums in Nürnberg von 1957 bis 1964 sowie des Wolfram-von-Eschenbach- Gymnasiums in Schwabach legte ich im Juli 1967 meine Reifeprüfung ab.

Im November 1967 nahm ich an der Ludwig-Maximilians- Universität in München das tierärztliche Studium auf. Vom Oktober 1968 bis März 1970 leistete ich meinen Grundwehrdienst ab und setzte im Mai 1970 das Studium der Tiermedizin fort. Im März 1975 bestand ich das tierärztliche Staatsexamen und erhielt am 7. April 1975 meine tierärztliche Bestallung.

Am 19. Juli 1974 heiratete ich die technische Angestellte Maria Sindensberger.

